

李媛媛,张怡康. 徐州采煤塌陷区复垦土壤的细菌群落多样性[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):312-315.

# 徐州采煤塌陷区复垦土壤的细菌群落多样性

李媛媛<sup>1,2</sup>, 张怡康<sup>1,3</sup>

(1. 中国矿业大学环境与测绘学院,江苏徐州 221116; 2. 中国矿业大学/江苏省资源环境信息工程重点实验室,江苏徐州 221116;

3. 江苏省徐州市铜山区国土资源局,江苏徐州 221116)

**摘要:**为探讨江苏省徐州市采煤塌陷区土壤微生物群落多样性及优势种群在复垦前后的变化,利用 454 焦磷酸测序法,对比分析采煤塌陷地、复垦地以及非塌陷对照地这 3 个样地的细菌多样性及群落结构。结果表明,变形菌、放线菌、浮霉菌、酸杆菌、绿弯菌、拟杆菌、厚壁菌和芽单胞菌为细菌的主要类群,但其在 3 个处理区的分布各不相同,即芽单胞菌和硝化螺旋菌在复垦区中分布最广,酸杆菌、放线菌、拟杆菌在对照区中最多,变形菌在塌陷区中分布最广。复垦地土壤的细菌群落多样性水平最高,对照地次之,塌陷地最低。细菌群落多样性指数与土壤有机质、全氮、速效钾的含量呈正相关关系,与土壤盐分呈负相关关系。开采沉陷导致土壤肥力退化和土壤盐渍化现象加重,抑制微生物的繁殖与生长。复垦与植被修复能够改善土壤理化特征,恢复微生物群落结构功能与多样性。

**关键词:**采煤塌陷区;复垦土壤;微生物;454 焦磷酸测序法;多样性

**中图分类号:** S154.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0312-04

采煤会扰动人类活动等,不可避免地会改变土壤生态系统,破坏微生物群落生态功能稳定性。矿区土壤复垦及生态重建已成为全球土壤环境研究领域中的重要课题<sup>[1]</sup>。土壤微生物群落能敏锐地反映出生态环境的功能演变以及环境胁迫等影响,是衡量矿区土壤生态功能和监测矿区环境变化的有效指示器<sup>[2-3]</sup>。近年来,我国关于矿区生态恢复的研究取得了丰硕的成果,但主要集中于复垦土壤的物理特性、化学特征和重金属污染等方面<sup>[4-6]</sup>。有关复垦土壤的微生物群落特征的研究较少,特别是从分子水平对矿区土壤微生物群落结构及多样性的报道较为少见。本研究采用定量 PCR 和 454

焦磷酸测序法<sup>[7]</sup>,通过比较复垦地、塌陷地及对照地的土壤细菌多样性及群落结构等特征,探讨复垦以及植被恢复对土壤微生物群落的影响。一方面为 454 焦磷酸测序技术的应用提供试验方法和经验借鉴,另一方面将认识矿区土壤微生物特性的高度提升到了分子水平,为土壤生态学研究提供了新视角,同时也为矿区生态恢复提供了信息和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 土壤样品采集与预处理

试验区设在江苏省徐州市柳新国家复垦示范项目区内,共包括复垦地、塌陷地和对照地 3 个不同处理的采样区,选取代表性的泥浆泵复垦地以及塌陷未复垦地作为土样采集对象,并以未受影响的正常农田为对照。复垦区的土壤经泥浆泵复垦后,进行“豆科牧草+禾本科牧草”混播配植,植被包括紫花苜蓿、三叶草以及黑麦草。复垦区与对照区具有相同

收稿日期:2014-04-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:51174207);江苏高校优势学科建设工程项目(编号:SZBF2011-6-B35)。

作者简介:李媛媛(1985—),女,江苏徐州人,博士研究生,主要从事矿区土地复垦与土地利用研究。E-mail: cumt\_lyy@126.com。

[2]刘玉壶,罗献瑞,吴容芬,等. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1996:133.

[3]徐惠强,郝日明,姚志刚,等. 珍稀树种小叶银缕梅和宝华玉兰自然现状及其就地保护研究[J]. 江苏林业科技,2001,28(5):19-21.

[4]蒋国梅,孙国,张光富,等. 濒危植物宝华玉兰种内与种间竞争[J]. 生态学杂志,2010,29(2):201-206.

[5]Aloui A,Recorbet G,Robert F,et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis elicits shoot proteome changes that are modified during cadmium stress alleviation in *Medicago truncatula* [J]. BMC Plant Biology, 2011,11(1):75-81.

[6]Bedini S,Turrine A,Rigo C,et al. Molecular characterization and glomalin production of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing a heavy metal polluted ash disposal island, downtown Venice[J]. Soil Biology and Biochemistry,2010,42(5):758-765.

[7]宋微,吴小芹,叶建仁. 6 种外生菌根真菌对 895 杨矿质营养吸收的影响[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2011,35(2):

35-38.

[8]林新春,俞志雄. 9 种木兰科植物的花粉形态观察[J]. 浙江林学院学报,2003,20(4):353-356.

[9]王剑伟,张光富,陈会艳. 特有珍稀植物宝华玉兰种群分布格局和群落特征[J]. 广西植物,2008,26(4):489-494.

[10]Komanik P P,Bryon W C,Schultz R C. Procedures and equipment for staining large numbers of plant root samples for endomycorrhizal assay[J]. Canadian Journal of Microbiology,1980,26(4):536-538.

[11]Peterson T A,Mueller W C,Englander L. Anatomy and ultrastructure of a rhododendron root-fungus association[J]. Canadian Journal of Botany,1980,58(23):2421-2433.

[12]Grime J P,Mackey J M L,Hillier S H,et al. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms[J]. Nature,1987,328:420-422.

[13]梁宇,郭良栋,马克平. 菌根真菌在生态系统中的作用[J]. 植物生态学报,2002,26(6):739-745.

的种植制度和施肥管理水平。在 3 个处理区内按照“S”形分别选取 5 个样点(重复 3 次采样),每个样点采集 0~20 cm 深度的土样,0~20 cm 土层四边各取 1/4 土样,混合构成 1 个样(按同一处理进行归类)。各样区采回的土样风干过筛后充分混合,过 2 mm 筛后分装,保存于 4、-80 ℃ 冰箱中,分别用于理化指标测定和 DNA 提取。

## 1.2 土壤基本性质测定

表 1 不同处理区的土壤理化性质

处理	pH 值	土壤盐分含量 (g/kg)	有机质含量 (g/kg)	全磷含量 (g/kg)	全氮含量 (g/kg)	速效钾含量 (mg/kg)
复垦地	8.09 ± 0.06	1.37 ± 0.12	1.82 ± 0.42	0.83 ± 0.19	1.45 ± 0.22	114.54 ± 4.21
塌陷地	8.61 ± 0.08	1.86 ± 0.16	1.11 ± 0.18	0.90 ± 0.17	0.75 ± 0.34	100.74 ± 6.71
对照地	7.55 ± 0.02	0.89 ± 0.17	1.97 ± 0.24	0.97 ± 0.11	1.48 ± 0.32	116.61 ± 6.21

注:  $n=3$ 。

## 1.3 土样 DNA 提取、PCR 扩增与测序

称 1 g 土壤,使用 E. Z. N. A.® Soil DNA 试剂盒抽提基因组 DNA;提取 DNA 浓度采用 NanoDropND-2000 微量分光光度仪定量并检测纯度,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性。

细菌 16S rRNA 基因融合引物为 27F (5' - AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG - 3') 和 533R (5' - TT ACCGCGGCTGCTGGCAG - 3'),由上海美吉生物医药科技有限公司合成。定量 PCR 反应体系(20 μL)包括 5 倍快速高保真缓冲液 4 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL,快速高保真 DNA 聚合酶 0.4 μL, 5 μmol/L 引物 27F,533R 各 0.4 μL,细菌总 DNA 模板 10 ng,不足的补 ddH<sub>2</sub>O 至 20 μL。PCR 反应在 ABI Gene Amp 9700 内进行,扩增程序为:95 ℃ 预变性 2 min;95 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,25 个循环;72 ℃ 延伸 5 min。3 个处理区的样品各重复扩增 3 次,将多次扩增的产物混合均匀,以消除单次扩增的偏向性。用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物的丰度及其特异性,使用爱思进公司的 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 产物,Tris\_HCL 洗脱。参照电泳初步定量结果,借助 QuantiFluor™ - ST 荧光定量,用 PicoGreen® dsDNA 定量试剂盒进行检测;再按照每个样品的测序量要求进行相应比例的混合,进行后续的 454 焦磷酸测序。454 焦磷酸测序选用 Roche 指定的试剂 GS FLX + Sequencing Method Manual\_XLR70 kit,在罗氏 454 高通量测序平台(GS FLX Titanium platform)上进行,由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

## 1.4 数据处理与分析

本研究的数据处理与分析采用软件 SPSS 19.0 和 Excel 2010 完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 16S rRNA 基因序列测序结果及细菌群落总体分布特征

454 焦磷酸高通量测序共得到 31 469 条有效序列、26 717 条优化序列。复垦地、塌陷地与对照地分别得到优化序列 10 103、10 450、6 164 条,平均长度为 474 bp。如图 1 所示,土壤细菌主要由变形菌(35.00%)、放线菌(11.50%)、浮霉菌(7.24%)、酸杆菌(6.45%)、绿弯菌(6.02%)、拟杆菌(4.64%)、芽单胞菌(3.79%)、厚壁菌(2.45%)和硝化

按照文献[8]测定土壤的基本性质,其中有机质含量的测定采用重铬酸钾容量法(外加热法);pH 值的测定采用电导法(水土比 2.5:1);全氮含量的测定采用半微量开氏法;全磷含量的测定采用 NaOH 熔融-钼锑抗比色法;速效钾含量的测定采用 1.0 mol/L NH<sub>4</sub>Ac 浸提-火焰光度法;土壤盐分含量使用托普生产的 TZS-EC-I 电导仪测定。土壤基本理化性质主要参数见表 1。

螺旋菌(2.42%)组成。这些菌群在 3 个处理区的所有样品中均有分布,与已有研究结果<sup>[9-11]</sup>一致。其中,变形菌门占绝对优势,且在塌陷地中的比例最高(48.23%)。同样,Tait 等在对美国马萨诸塞州礁湖土壤细菌的研究中发现,72% 的细菌属于变形菌门<sup>[9]</sup>;Kolton 等在对不同土壤系统的研究中也揭示了变形菌门为最具优势的土壤细菌类群<sup>[10]</sup>。这说明变形菌门在维持土壤生态系统功能中扮演着重要的角色,其在土壤中的广泛分布占据了微生物群落组成的主要部分。变形菌门主要以 4 种变形菌亚群  $\gamma$ -变形菌、 $\alpha$ -变形菌、 $\beta$ -变形菌、 $\delta$ -变形菌纲为主,其中  $\gamma$ -变形菌占绝对主导地位,为不同环境矿区土壤的广适类群。与本研究结果不同的是,Roesch 等通过对土壤细菌样品的测序分析得出,在变形菌门中最具优势的变形菌亚门为  $\beta$ -变形菌<sup>[11]</sup>。

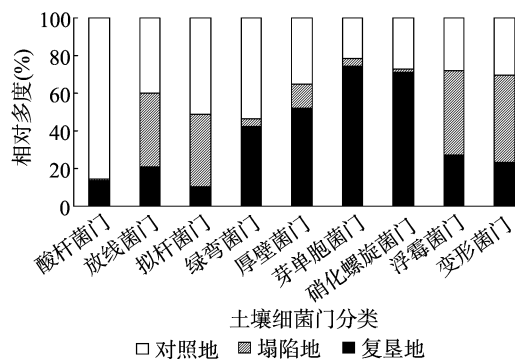


图1 不同土壤处理中土壤细菌优势种群在门(分类)上的分布情况

### 2.2 土壤细菌群落的多样性

在不同的相似水平下[97% (0.03)、95% (0.05)、90% (0.10)]<sup>[11]</sup>,通过多样性指数的非参数分析对比不同处理土壤的物种丰度与多度,结果如表 2 所示。如表 2 所示,细菌多样性水平在不同处理区从大到小依次为复垦地 > 对照地 > 塌陷地。复垦地的土壤微生物群落 DNA 序列的丰富度、均匀度和多样性指数最高,对照地次之,而未复垦裸地的物种多样性指数明显最低。

### 2.3 土壤理化性质与细菌多样性的相关分析

如表 3 所示,塌陷地土壤的有机质、全氮、全磷、速效钾含量均低于对照地,说明开采沉陷造成塌陷区土壤肥力下降,造成其有机质以及氮、磷等土壤养分元素的流失。与塌陷区土

表 2 不同处理区的细菌群落多样性指数

相似水平 (%)	处理	分类单元	Chao 1 菌群丰 度指数	ACE 菌 群丰度 指数	香浓多 样性 指数	辛普森 多样性指数
97	复垦地	2 997	5 534	7 992	7.16	0.002 8
	塌陷地	1 433	2 585	3 643	5.74	0.011 9
	对照地	2 206	3 707	4 766	7.17	0.002 1
95	复垦地	2 343	3 950	5 147	6.80	0.003 7
	塌陷地	1 100	1 807	2 334	5.51	0.012 9
	对照地	1 735	2 663	2 744	6.82	0.002 0
90	复垦地	1 403	2 113	2 508	6.03	0.007 5
	塌陷地	724	1 146	1 301	5.08	0.015 7
	对照地	1 010	1 427	1 422	6.02	0.005 4

壤相比,复垦土壤的有机质、全氮、有效钾含量明显增加,且与对照区土壤的含量相近。说明复垦对增加土壤养分含量、恢复土壤肥力具有促进作用。

相关性分析结果(表 3)表明,土壤细菌群落多样性指数

表 3 土壤细菌多样性与土壤性质的相关分析

细菌群落多样性指数	相关系数					
	pH 值	土壤盐分含量	有机质含量	全磷含量	全氮含量	速效钾含量
操作分类单元	-0.312	-0.736 *	0.801 **	0.669	0.699 *	0.683
Chao 1 菌群丰度指数	-0.267	-0.693 *	0.856 **	0.686 *	0.793 **	0.681 *
ACE 菌群丰度指数	-0.317	-0.719 *	0.809 **	0.671 *	0.794 **	0.715 *
香浓多样性指数	-0.241	-0.651 *	0.871 **	0.685 *	0.791 **	0.692 *

注:\*\*、\* 分别代表差异达到极显著( $P<0.01$ )、显著( $P<0.05$ )水平。

与塌陷未复垦地相比,复垦土壤的细菌群落丰富度和均匀度指数均大幅度提高,群落多样性较复垦前有很大改善。因此,复垦土壤较高的细菌多样性水平与植被对土壤肥力改良的积极作用有较大关系。复垦土壤经“禾木科+豆科”牧草混合种植后,土壤微生物群落多样性水平已经达到并且超过了对照地,说明这种混播模式能促进土壤微生物繁殖与生长,丰富微生物类群。

豆科植物有较强的固氮作用,能够增加土壤有机质含量;植株生长旺盛,植物残落物和根系分泌物多,为微生物提供丰富的活动基质,促进微生物数量的增加。黑麦草具有发达的根系,能为微生物提供生长所需的矿质元素,可以大大增加根际微生物的数量,促进种群的多样化。禾木科与豆科绿肥作物混播,高(直)矮(匍匐)型绿肥配合种植,可充分发挥种间的互补互利作用,协调养分供应,同时提高抵御暴雨、低温冻害、杂草等不良因子侵袭的能力,减少水土流失,实现土壤生态环境的快速恢复。同时,紫花苜蓿、三叶草作为耐盐、抗盐植物,是进行盐碱地改良的优良牧草品种。耐盐植物的种植,有利于土壤团粒结构的形成,改善土壤理化性质,创造出更适合微生物生长的健康环境<sup>[16]</sup>。“禾木科+豆科”混播种植模式对矿区土壤微生物群落多样性的恢复具有较大的生态效应。

2.4 土壤细菌群落结构比较分析

由图 1 可知,在细菌门分类水平上,变形菌门在塌陷区中的菌群优势最高;芽单胞菌和硝化螺旋菌在复垦土壤中的相对多度最高;酸杆菌、放线菌、拟杆菌及绿弯菌在对照土壤中所占比例最高。细菌种群分布的差异更突出地表现在细菌属、科一级的分类水平上,结果如图 2 所示,塌陷区土壤细菌

与全氮、有机质含量均呈极显著正相关( $P<0.01$ ),与全磷、速效钾含量显著正相关( $P<0.05$ ),与土壤盐分含量显著负相关( $P<0.05$ )。土壤全氮、全磷、有机质以及盐分均是制约微生物群落丰富度的主要因素,未处理区土壤养分和土壤盐分的差异直接影响微生物群落的多样性。

对于塌陷区而言,长期地面沉降导致土壤侵蚀以及土壤养分严重流失<sup>[12-13]</sup>。塌陷土壤中的细菌物种多样性指数相对较低(表 2),究其原因可能是:一方面,煤炭开采沉陷使得土壤的理化性质发生变化,造成土壤肥力退化,影响有机质和矿物质的分解、淋溶和沉积,抑制微生物的生长与繁殖<sup>[12-14]</sup>;另一方面,土壤盐渍化现象对微生物起抑制作用。柳新采煤塌陷地属于高潜水位平原区采煤塌陷地,许多地区沉陷时间长达 20 余年,土地次生盐渍化趋势加重<sup>[14-15]</sup>。盐渍化使得土壤养分含量大大降低,削弱了微生物的新陈代谢速度,从而抑制土壤活性,导致微生物多样性、均匀性指数下降<sup>[14]</sup>。

属主要隶属于脲基降解菌、SM1A02、浮霉菌、休囊菌和溶杆菌;而复垦区土壤细菌属主要隶属于硝化螺菌、地杆菌 *Chloracidobacterium*、厌氧绳菌和芽单胞菌。地杆菌仅存在于复垦土壤中,而脲基降解菌仅存在于塌陷土壤中。复垦区土壤中所含的优势菌群种类最多,塌陷区次之,对照区最少。土壤环境的改变影响了土壤微生物群落稳定性,特别是受到沉陷破坏的贫瘠土地,已经不是部分微生物适宜生长和繁殖的基地。随着土壤生态环境的变化,土壤细菌群落中的一些物种将逐渐被某些更适应在新环境中生长的物种替代。

在不同的分类水平上,大多数优势细菌在复垦土壤中表现出较高的丰富度,细菌类群在分布上也表现出对复垦土壤的偏好性。这说明牧草根际土壤碳源充足对微生物生长繁殖的有效性,体现出微生物特定种群利用碳源的选择差异性。例如,屈挠杆菌属、玫瑰弯菌属以及休囊菌仅存在于复垦土壤与对照土壤中,说明一些特殊物种受到塌陷影响后会减少甚至消失,但经过植被修复等措施后,微生物群落得到恢复,改变了细菌群落结构。对于复垦区而言,混播黑麦草、三叶草和紫花苜蓿对土壤的生态系统有很大的修复作用,不仅改善了微生物群落结构和功能,而且促进了矿区盐土性质的有效改善和盐碱地的有效改良<sup>[17]</sup>。

采煤沉陷易造成土壤盐渍化,随着土壤盐碱化程度的加重,微生物群落利用碳源的能力及微生物多样性指数、均匀性指数都逐渐降低,因此微生物群落内部结构的转变与盐渍化现象密切相关。盐渍化导致土壤呼吸和微生物生物量的降低,并且阻碍养分相关元素的分解和矿化过程,长期处于高盐浓度环境下的微生物群落由于需要很高的新陈代谢能量,其利用基质的效率变低,许多非嗜盐微生物不能生存。在这一

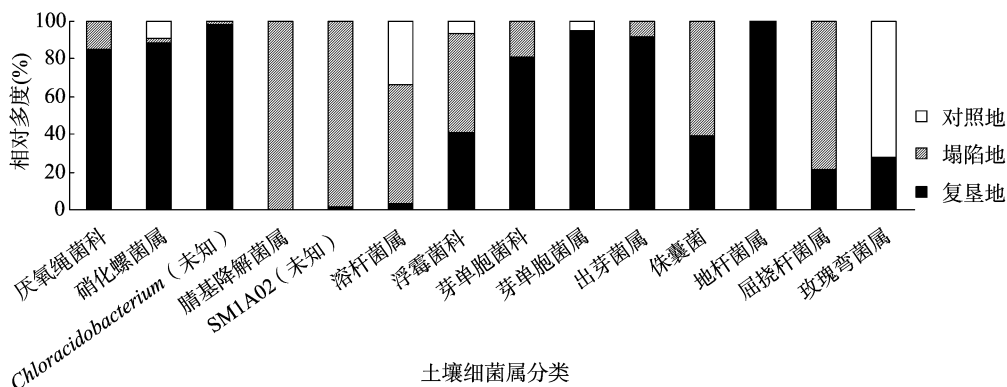


图2 不同处理区土壤优势细菌属的相对丰度

背景下,部分嗜盐微生物以及耐盐物种能够很好地繁殖,如放线菌门、变形菌门被认为是嗜盐微生物,在塌陷地中的分布较广泛。溶杆菌与浮霉菌属在塌陷土壤中的数量较多,说明这些菌种对土壤盐渍化的适应性相对要好一些。

### 3 结论与讨论

本研究将 454 焦磷酸测序方法应用到矿区复垦研究中,对矿区土壤的细菌多样性进行分析。与常规的分子生态学方法(如克隆文库)以及传统的 Sanger 测序法相比,454 焦磷酸测序法在分析通量和信息量上都具有明显的优势。本试验经测序得到 31 469 条有效序列,远远超过了之前相关报道中运用传统测序方法得到的序列数;同时,本试验中平均 85.7% 的样品文库覆盖率提高了物种检测的深度,说明细菌多样性信息能够反映出土壤细菌群落结构的真实状况,证明 454 焦磷酸测序技术在鉴定微生物群落方面具有不可替代的优势。454 焦磷酸测序的应用为矿区土壤微生物群落的研究提供了新的视野和高度。

矿区复垦实践对土壤细菌群落多样性以及种群分布特征产生了深刻影响。土壤细菌群落多样性水平在不同处理区从高到低依次表现为复垦区 > 对照区 > 塌陷区。这说明经过长期的复垦实践及混播豆科与禾本科植物能大大改善塌陷土壤的微生态环境,土壤微生物多样性指数显著提高,微生物群落的结构和功能得到恢复。“豆科 + 禾本科”混播模式是一种快速、有效的土壤修复途径。选择耐盐碱的苜蓿、三叶草等品种进行盐碱地改良,是合理开发利用盐渍化土地资源的切实可行之路。

在土壤生态系统中,土壤微生物与土壤养分之间相互依存、相互影响。土壤多样性指数与有机质、全氮、全磷、速效钾的含量呈显著或极显著正相关,而与盐分含量、pH 值之间呈负相关关系。其中,土壤养分以及土壤盐分是影响土壤微生物群落特征的关键因素。土壤微生物群落的演变是长期且动态的,在今后的研究中应在相同的复垦样地上进行长期定位检测,分析不同复垦年限土壤微生物群落特征的变化规律,更完整地反映出土壤微生物变化的本质。

### 参考文献:

[1] Hossner L R. Reclamation of surface mined lands [M]. Florida: CRC Press, 1998: 204 - 206.

[2] Sharma S K, Ramesh A, Sharma M P, et al. Microbial community structure and diversity as indicators for evaluating soil quality [J]. Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Conservation Agriculture, 2011, 5: 317 - 358.

[3] 姚慧敏, 张孙燕, 郑磊, 等. 2 种不同种植方式下葡萄园土壤微生物的多样性 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41 (8): 372 - 374.

[4] 刘飞, 陆林. 采煤塌陷区的生态恢复研究进展 [J]. 自然资源学报, 2009, 24 (4): 612 - 620.

[5] 焦晓燕, 王立革, 卢朝东, 等. 采煤塌陷地复垦方式对土壤理化特性影响研究 [J]. 水土保持学报, 2009, 23 (4): 123 - 125, 145.

[6] 李兵, 李新举, 刘雪冉. 施用蘑菇料对煤矿区复垦土壤物理特性的影响 [J]. 煤炭学报, 2010, 35 (2): 288 - 292.

[7] Nacke H, Thürmer A, Wollherr A, et al. Pyrosequencing - based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils [J]. PLoS One, 2011, 6 (2): e17000.

[8] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2008.

[9] Tait E, Carman M, Sievert S M. Phylogenetic diversity of bacteria associated with ascidians in eel pond (Woods Hole, Massachusetts, USA) [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2007, 342 (1): 138 - 146.

[10] Kolton M, Meller Harel Y, Pasternak Z, et al. Impact of biochar application to soil on the root - associated bacterial community structure of fully developed greenhouse pepper plants [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77 (14): 4924 - 4930.

[11] Roesch L F, Fulthorpe R R, Riva A, et al. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity [J]. The ISME Journal, 2007, 1 (4): 283 - 290.

[12] 臧荫桐, 汪季, 丁国栋, 等. 采煤沉陷后风沙土理化性质变化及其评价研究 [J]. 土壤学报, 2010, 47 (2): 262 - 269.

[13] Song J J, Han C J, Li P, et al. Quantitative prediction of mining subsidence and its impact on the environment [J]. International Journal of Mining Science and Technology, 2012, 22 (1): 69 - 73.

[14] 路海玲, 孟亚利, 周玲玲, 等. 盐胁迫对棉田土壤微生物量和土壤养分的影响 [J]. 水土保持学报, 2011, 25 (1): 197 - 201.

[15] 肖炜, 杨亚玲, 刘宏伟, 等. 昆明盐矿古老岩盐沉积中可培养细菌多样性研究 [J]. 微生物学报, 2006, 46 (6): 967 - 972.

[16] 肖克魔, 吴普特, 雷金银, 等. 不同类型耐盐植物对盐碱土生物改良研究 [J]. 农业环境科学学报, 2012, 31 (12): 2433 - 2440.

[17] 徐华勤, 肖润林, 邹冬生, 等. 长期施肥对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响 [J]. 生态学报, 2007, 27 (8): 3355 - 3361.